

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : **11-302142**

(43)Date of publication of application : **02.11.1999**

(51)Int.Cl.

A61K 7/16
A23L 1/30
A23L 1/302
A23L 1/303
A61K 7/26
A61K 31/07
A61K 31/355
A61K 31/375
A61K 35/78
// C07D311/62
C07D311/72

(21)Application number : **10-115201**

(71)Applicant : **SUNSTAR INC**

(22)Date of filing : **24.04.1998**

(72)Inventor : **SEKIMOTO SACHIYO**

(54) FOOD COMPOSITION FOR PREVENTION AND TREATMENT OF PERIODONTAL DISEASE, ORAL COMPOSITION AND PHARMACEUTICAL COMPOSITION

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a food composition having excellent preventive and therapeutic activities against periodontal disease, having high safety and usable for prevention and treatment of the periodontal disease, and further to obtain an oral composition and a pharmaceutical composition.

SOLUTION: The food composition for prevention and treatment of periodontal disease, the oral composition and the pharmaceutical composition contain (A) one or more kinds selected from extracts (e.g. the extract of grape seeds) containing a natural polyphenol, and (B) one or more kinds selected from the group consisting of vitamin E, vitamin A and β -carotene.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 25.12.2002

[Date of sending the examiner's decision of rejection] 24.11.2004

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or

application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 3763075

[Date of registration] 27.01.2006

[Number of appeal against examiner's
decision of rejection] 2004-26316

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection] 24.12.2004

[Date of extinction of right]

* NOTICES *

JPO and NCIPi are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

CLAIMS

[Claim(s)]

[Claim 1] (A) It is (B) to one sort or two sorts or more, and list which are chosen from the extract containing natural polyphenol. Food constituent for gum disease prevention or a therapy containing one sort chosen from the group which becomes vitamin C and its salt, vitamin E, and a vitamin A list from B-carotene, or two sorts or more.

[Claim 2] (A) The constituent according to claim 1 which is one sort chosen from the group which the extract containing natural polyphenol becomes from grape seed extractives, a tea extract, blueberry extractives, and the Silymarin extractives, or two sorts or more.

[Claim 3] Furthermore, (C) Constituent containing antibacterial vegetable extractives according to claim 1 or 2.

[Claim 4] (C) The constituent according to claim 3 which is one sort chosen from the group which antibacterial vegetable extractives become from an oil solubility glycyrrhiza extract and mulberry bark extractives, or two sorts.

[Claim 5] A constituent [especially useful to the smoker who has the depressant action of the periodontium cell origin matrix METARO protease production by nicotine stimulus] according to claim 1 to 4.

[Claim 6] (A) It is (B) to one sort or two sorts or more, and list which are chosen from the extract containing natural polyphenol. Constituent for the oral cavities containing one sort chosen from the group which becomes vitamin C and its salt, vitamin E, and a vitamin A list from B-carotene, or two sorts or more for gum disease prevention or a therapy.

[Claim 7] (A) It is (B) to one sort or two sorts or more, and list which are chosen from the extract containing natural polyphenol. Physic constituent for gum disease prevention or a therapy containing one sort chosen from the group which becomes vitamin C and its salt, vitamin E, and a vitamin A list from B-carotene, or two sorts or more.

[Translation done.]

* NOTICES *

JPO and NCIPI are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.**** shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Field of the Invention] This invention relates to the food constituent, the constituent for the oral cavities, and physic constituent for gum disease prevention or a therapy.

[0002]

[Description of the Prior Art] A matrix METARO protease (it abbreviates to MMPs a Japanese name 'a matrix metalloprotein dialytic ferment' and henceforth) is the generic name of the extra-cellular-matrix dialytic ferment characterized by holding zinc (II) ion in an active site. The metabolic turnover of this extra-cellular matrix is mainly adjusted by the balance of MMPs and organization origin METARO protease inhibitor (TIMP) specific to MMPs. It is known that collapse of the abnormalities in structure of an extra-cellular-matrix component based on the abnormalities in a manifestation of MMPs and the metabolic turnover balance of composition and decomposition is connected with gum disease, such as periodontitis.

[0003] As MMPs, ten or more kinds of enzyme molecular species, such as collagenase (MMP- 1 and 8), SUTOROME lysin (MMP-3), and gelatinase (MMP- 2 and 9), are known (185 Yoshiwara, a new name: inflammation, immunity, 2,177- 1994), and these are produced by the cell of many kinds.

[0004] Also in gum disease, such as gingivitis and periodontitis, it is thought that MMPs is participating in the onset and advance of gum disease deeply, and it is suggested that MMPs which participates in the organization destruction in gum disease, such as gingivitis and periodontitis, is the collagenase and gelatinase which a Homo sapiens gingival-epithelium cell, gum fibroblast, and a periodontium cell mainly produce. Namely, gum disease, such as gingivitis and periodontitis, happens, when a specific gum disease Hara bacillus (P. gingivalis bacillus) infects the periodontium. The epithelial cell and gum fibroblast in the periodontium which received the outpatient department stimulus by the disease germ, As a result of producing MMPs from a periodontium cell, when the periodontium structure where a gear tooth and the periodontium are combined is destroyed by the cell origin MMPs, symptoms mainly develop. It is thought that it goes on (926 M. Kylmaniemi et al:J.Dent Res., 75:919- 1996). Moreover, the activity of the periodontium origin MMPs increasing easily also according to a factor which changes the immune response nature of living bodies, such as individual smoking habit and a diabetes-mellitus disease, and increasing the onset and the percentage of completion of gum disease, such as gingivitis and periodontitis, is suggested.

[0005] Therefore, the tetracycline it is reported that it is it being thought that the inhibitor of MMPs is promising for the therapy or prevention of periodontitis, gingivitis, etc. of gum disease, for example, checking MMPs of gum fibroblast and the epithelial cell origin in periodontitis, and its qualification object (385 L. H.Nip et al:J.Periodont Res., 28:379- 1993) are actually applied as a therapy adjuvant of periodontitis.

[0006] However, if the appearance risk of the resistant bacteria in the side effect and the inside of the body peculiar to a tetracycline antibiotic which are synthetic material is taken into consideration, it is not desirable to take in these antibiotics for a long period of time in order to treat or prevent gum disease,

such as periodontitis. Therefore, a MMP inhibitor which is the natural product origin with few side effects by recipe and intake, and has inhibitory action to MMPs of the periodontium origin is desired. And sufficient MMPs inhibition effectiveness needs to be demonstrated with the suitable intake usually considered.

[0007] Here, as a MMPs inhibitor of the natural origin, it is reported, for example that the flavones or anthocyanidins of the natural product origin has MMPs inhibitory action (JP,08-104628,A). as the inhibitor of the natural origin to the collagenase which is one sort of MMPs -- Schizonepeta tenuifolia extractives or peppermint extractives (JP,06-183990,A), and a NORUJIHIDOROGUAYARE tech -- acid (JP,04-217626,A) and PORIPORE nick acid C (JP,09-40552,A) are reported. moreover, the 4 ring type by which separation purification was carried out from the HOUFUKU low bamboo -- triterpene 20-carboxy-16-hydroxy-21-nor-5 It is also reported that alpha-7, 9(11)-lanostadien-3, and 24-dione have collagenase inhibitory action (JP,9-235293,A).

[0008] It is reported that the catechins contained in tea show a procaryote cell and the inhibitory action to the collagenase of the eukaryote cell origin, and the inhibitory action to the collagenase of a gum disease patient's gingival-sulcus decoction origin is shown (636 M.Makimura et al:J.Periodontol., 64 (7):630- 1993).

[0009] Moreover, as for green tea extract polyphenol, the caries, the preventive effect (JP,04-27204,B) of gum disease, etc. are reported.

[0010] The supply food (trade name Body Language, Oxyfresh, and U.S.) which blended coenzyme Q 10 with the BUTOU seed extractives with which it is reported that the inhibition effectiveness is shown to the collagenase of a part of bacillus origins (L. 38:608 Robert et al:Path.Biol and 1990) and which solicits gum anti-inflammations is sold in the U.S.

[0011]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-302142

(43) 公開日 平成11年(1999)11月2日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	F I	
A 6 1 K	7/16	A 6 1 K	7/16
A 2 3 L	1/30	A 2 3 L	1/30
	1/302		1/302
	1/303		1/303
A 6 1 K	7/26	A 6 1 K	7/26
審査請求 未請求 請求項の数 7 O L (全 16 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号 特願平10-115201

(22) 出願日 平成10年(1998) 4月24日

(71) 出願人 000106324

サンスター株式会社

大阪府高槻市朝日町 3 番 1 号

(72) 発明者 関元 幸代

大阪府茨木市下穂積 4 - 7 - 26 I I -
202

(74) 代理人 弁理士 三枝 英二 (外10名)

(54) 【発明の名称】 歯周病の予防又は治療用の食品組成物、口腔用組成物及び医薬組成物

(57) 【要約】

【課題】優れた歯周病予防又は治療効果を有し、安全性の高い歯周病予防又は治療用の食品組成物、口腔用組成物及び医薬組成物。

【解決手段】(A) 天然ポリフェノールを含む抽出物から選ばれる1種又は2種以上、並びに、(B) ビタミンC、ビタミンE、ビタミンA及びベータカロチンからなる群より選ばれる1種又は2種以上、を含有する歯周病予防又は治療用食品組成物、口腔用組成物及び医薬組成物。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 (A) 天然ポリフェノールを含む抽出物から選ばれる1種又は2種以上、並びに、(B) ビタミンC及びその塩、ビタミンE、ビタミンA並びにベータカロチンからなる群より選ばれる1種又は2種以上、を含有する歯周病予防又は治療用食品組成物。

【請求項2】 (A) 天然ポリフェノールを含む抽出物が、ブドウ種子エキス、茶抽出物、ブルーベリーエキス及びシリマリンエキスからなる群より選ばれる1種又は2種以上である請求項1に記載の組成物。

【請求項3】 さらに、(C) 抗菌性植物エキス、を含有する請求項1又は2に記載の組成物。

【請求項4】 (C) 抗菌性植物エキスが、油性甘草エキス及び桑白皮エキスからなる群より選ばれる1種又は2種である請求項3に記載の組成物。

【請求項5】 ニコチン刺激による歯周組織細胞由来マトリックスメタロプロテアーゼ産生の抑制作用を有する、喫煙者に特に有用な請求項1～4のいずれかに記載の組成物。

【請求項6】 (A) 天然ポリフェノールを含む抽出物から選ばれる1種又は2種以上、並びに、(B) ビタミンC及びその塩、ビタミンE、ビタミンA並びにベータカロチンからなる群より選ばれる1種又は2種以上、を含有する歯周病予防又は治療用口腔用組成物。

【請求項7】 (A) 天然ポリフェノールを含む抽出物から選ばれる1種又は2種以上、並びに、(B) ビタミンC及びその塩、ビタミンE、ビタミンA並びにベータカロチンからなる群より選ばれる1種又は2種以上、を含有する歯周病予防又は治療用医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、歯周病予防又は治療用の食品組成物、口腔用組成物及び医薬組成物に関する。

【0002】

【従来の技術】マトリックスメタロプロテアーゼ（和名‘マトリックス金属タンパク質分解酵素’、以降MMPsと略す）は、活性部位に亜鉛（II）イオンを保有することを特徴とする、細胞外マトリックス分解酵素の総称である。この細胞外マトリックスの代謝は、MMPsと、MMPsに特異的な組織由来メタロプロテアーゼインヒビター（TIMP）とのバランスにより、主に調節されている。MMPsの発現異常にもとづく細胞外マトリックス成分の構造異常や、合成・分解の代謝バランスの崩れは、歯周炎等の歯周病と関連していることが知られている。

【0003】MMPsとしては、コラゲナーゼ（MMP-1および8）、ストロメライシン（MMP-3）、ゼラチナーゼ（MMP-2および9）など10種類以上の酵素分子種が知られ（吉原、新名：炎症と免疫、2、177-185、1994）、これ

らは多くの種の細胞によって産生される。

【0004】歯肉炎、歯周炎等の歯周病においても、MMPsは、歯周病の発症および進行に深く関与しているものと考えられており、歯肉炎・歯周炎等の歯周病における組織破壊に関与するMMPsは、主としてヒト歯肉上皮細胞や歯肉線維芽細胞、歯根膜細胞の産生するコラゲナーゼやゼラチナーゼであることが示唆されている。すなわち歯肉炎、歯周炎等の歯周病は、特定の歯周病原菌（*P.gingivalis*菌）が歯周組織に感染することによって起こり、病原菌による外来刺激を受けた歯周組織中の上皮細胞や歯肉線維芽細胞、歯根膜細胞からMMPsが産生された結果、歯と歯周組織を結合させている歯根膜構造が細胞由来MMPsに破壊されることによって主として発症し、進行すると考えられている（M. Kylmaniet al: J. Dent Res., 75: 919-926, 1996）。また、歯周組織由来MMPsの活性は、個人の喫煙習慣や糖尿病罹患など生体の免疫応答性を変えるような要因によっても容易に増大し、歯肉炎、歯周炎等の歯周病の発症や進行度を増大させることが示唆されている。

【0005】従って、MMPsの阻害剤は、歯周炎、歯肉炎等の歯周病の治療または予防に有望であると考えられ、例えば、歯周炎においては、歯肉線維芽細胞と上皮細胞由来のMMPsを阻害することが報告されているテトラサイクリン及びその修飾体（L. H. Nip et al: J. Periodont Res., 28: 379-385, 1993）が、実際に歯周炎の治療補助薬として適用されている。

【0006】しかし、合成物質であるテトラサイクリン系抗生物質特有の副作用や体内での耐性菌の出現リスクを考慮すると、歯周炎等の歯周病を治療もしくは予防する目的でこれら抗生物質を長期間摂取することは好ましくない。したがって、服用・摂取による副作用の少ない天然物由来であって歯周組織由来のMMPsに対して阻害作用のあるMMP阻害剤が望まれている。しかも通常考えられる適切な摂取量によって、十分なMMPs阻害効果が発揮される必要がある。

【0007】ここで、天然由来のMMPs阻害剤としては、例えば、天然物由来のフラボン類またはアントシアニン類がMMPs阻害作用を有することが報告されている（特開平08-104628）。MMPsの1種であるコラゲナーゼに対する天然由来の阻害剤として、荊芥エキスまたは薄荷エキス（特開平06-183990）、ノルジヒドログアヤレテックアシッド（特開平04-217626）、ポリボレニックアシッドC（特開平09-40552）が報告されている。また、ハウフクロウタケより分離精製された四環式トリテルペン20-carboxy-16-hydroxy-21-nor-5 α -7,9(11)-lanostadien-3,24-dioneがコラゲナーゼ阻害作用を有すること（特開平9-235293）も報告されている。

【0008】茶に含まれるカテキン類は、原核生物細胞および真核生物細胞由来のコラゲナーゼに対する阻害作用を示し、また、歯周病患者の歯肉溝浸出液由来のコラ

ゲナーゼに対する阻害作用を示すことが報告されている (M.Makimura et al.:J.Periodontol.,64(7):630-636,1993)。

【0009】また、緑茶抽出ポリフェノールは、う蝕および歯周病の予防効果(特公平04-27204)等が報告されている。

【0010】一部の菌由来のコラゲナーゼに対して阻害効果を示すことが報告されている(L.Robert et al.:Pathol.Biol,38:608,1990)ブドウ種子エキスと、補酵素Q10を配合した、歯肉の抗炎症を訴求する補給食品(商品名 Body Language、Oxyfresh社、米国)が米国において販売されている。

【0011】一方、抗酸化作用の観点から、カテキン様またはフラボノリグナン様の構造を有する親水性ポリフェノール(例えば、プロアントシアニジン)と、親油性カロテノイドもしくは親油性プロカロテノイド(例えば、ビタミンE)の組合せにおいて、両者の抗酸化活性の相乗効果が報告されている(特開平07-196534)。

【0012】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、歯周病の予防又は治療効果に優れ、特に喫煙が増悪要因となる歯周病に対して予防又は治療効果に優れた、安全性の高い組成物、特に食品組成物、口腔用組成物及び医薬組成物を提供することにある。

【0013】

【課題を解決するための手段】本発明者は、鋭意研究した結果、天然ポリフェノールを含む抽出物を、ビタミンC(及びその塩)、ビタミンE、ビタミンA及びベータカロチンの1種以上と組合せて使用することにより、MMPsの阻害効果が増強されることを見だし、これらを含む組成物により優れた歯周病予防乃至治療効果が得られることを見出して、本発明を完成した。

【0014】また、天然ポリフェノールを含む抽出物と上記のビタミン類との組み合わせに、さらに抗菌活性を有する植物抽出物を含有する組成物とすることにより、歯周病原菌の歯周組織に対する刺激作用を取り除くことが可能となり、歯周病を予防または治療する効果が増強されることを見出した。

【0015】さらに、本発明者は、ニコチン環境下において、天然ポリフェノールを含む抽出物と上記のビタミン類とを併用すると、MMPs濃度増大を抑制する効果がさらに強まることを見出した。ここで、ニコチンは、タバコの煙中の主な刺激物質であり、ニコチンの刺激により歯周組織細胞に対して細胞の増殖抑制、コラゲナーゼ産生の増大等の悪影響を及ぼすことがin vitro試験により報告されている。従って、喫煙者は、喫煙が誘引となって歯周病を発症し易く、進行も早い。また、受動喫煙者であっても、ニコチン環境下であれば、喫煙者と同様に、歯周病を発症し易く、進行が早いという傾向にある。以上より、本発明者は、天然ポリフェノールを含む

抽出物と上記のビタミン類を含有する組成物により、喫煙が誘因となる口腔内のMMPs濃度の増大を効果的に抑制することを見出した。

【0016】即ち、本発明は、項1 (A) 天然ポリフェノールを含む抽出物から選ばれる1種又は2種以上、並びに、(B) ビタミンC及びその塩、ビタミンE、ビタミンA並びにベータカロチンからなる群より選ばれる1種又は2種以上、を含有する歯周病予防又は治療用食品組成物、項2 (A) 天然ポリフェノールを含む抽出物が、ブドウ種子エキス、茶抽出物、ブルーベリーエキス及びシリマリンエキスからなる群より選ばれる1種又は2種以上である項1に記載の組成物、項3 さらに、(C) 抗菌性植物エキス、を含有する項1又は2に記載の組成物、項4 (C) 抗菌性植物エキスが、油溶性甘草エキス及び桑白皮エキスからなる群より選ばれる1種又は2種である項3に記載の組成物、項5 ニコチン刺激による歯周組織細胞由来マトリックスメタロプロテアーゼ産生の抑制作用を有する、喫煙者に特に有用な項1〜4のいずれかに記載の組成物、項6 (A) 天然ポリフェノールを含む抽出物から選ばれる1種又は2種以上、並びに、(B) ビタミンC及びその塩、ビタミンE、ビタミンA並びにベータカロチンからなる群より選ばれる1種又は2種以上、を含有する歯周病予防又は治療用口腔用組成物、項7 (A) 天然ポリフェノールを含む抽出物から選ばれる1種又は2種以上、並びに、(B) ビタミンC及びその塩、ビタミンE、ビタミンA並びにベータカロチンからなる群より選ばれる1種又は2種以上、を含有する歯周病予防又は治療用医薬組成物に係る。

【0017】本発明の歯周病予防又は治療用食品組成物、歯周病予防又は治療用口腔用組成物及び歯周病予防又は治療用医薬組成物を、単に「本発明組成物」という場合がある。

【0018】尚、本発明組成物において、歯周病の予防とは、歯周病の発症を防ぐこと、及び歯周病の進行を遅延させることを意味する。

【0019】また、本発明において、「喫煙者」とは、喫煙者本人の他、受動喫煙者も含むものである。

【0020】

【発明の実施の形態】以下に、本発明を詳細に説明する。

【0021】本発明組成物に使用する天然ポリフェノールを含む抽出物としては、本発明で用いるビタミン類と組み合わせた場合に本発明の所期の効果を示すものであれば特に限定はされるものではないが、例えば、フラボノイド骨格を有する天然ポリフェノール、カテコール、フロログルシン等を含む抽出物が挙げられる。また、特に、MMPs阻害活性を有する天然ポリフェノールを、天然ポリフェノールとして含む抽出物が好ましい。

【0022】MMPs阻害活性を有する天然ポリフェノールとしては、例えば、慢性関節リウマチや、変形性関

節症における骨膜及び関節軟骨組織；角膜組織；歯周組織；並びに癌組織等の細胞由来MMPsに対して阻害活性を有するものが挙げられる。それらの中でも、歯周組織細胞由来MMPsに対して阻害活性を有する天然ポリフェノールが特に好ましい。

【0023】このような歯周組織細胞由来MMPsに対して阻害活性のある天然ポリフェノールとしては、例えば、フラボノイド骨格を有する天然ポリフェノールが挙げられる。

【0024】上記のフラボノイド骨格を有する天然ポリフェノールとしては、具体的には、プロアントシアニジン；エビガロカテキン、エビカテキン、ガロカテキン等のカテキン類；アントシアニジン類、アントシアニン類等が例示できる。

【0025】本発明組成物に使用する天然ポリフェノールを含む抽出物（以下、「天然ポリフェノール抽出物」とする）としては、例えば、ブドウ種子から得られるブドウ種子エキス、茶から得られる茶抽出物、ブルーベリーから得られるブルーベリーエキス、アザミから得られるシリマリンエキス等の天然ポリフェノール抽出物を用いるのが好ましく、特にブドウ種子エキスを

用いるのが好ましい。

【0026】本発明において、天然ポリフェノール抽出物は、単独で用いてもよく2種以上を組み合わせ用いてもよい。2種以上を組み合わせ用いる場合は、ブドウ種子エキスを、他の天然ポリフェノール抽出物と組み合わせ用いるのが好ましく、特に、ブドウ種子エキスと茶抽出物、ブドウ種子エキスとブルーベリーエキス、ブドウ種子エキスとシリマリンエキスの組合せが好ましく、これらの組合せの中でも特に、ブドウ種子エキスと茶抽出物の組合せが好ましい。

【0027】本発明組成物における天然ポリフェノール抽出物の配合量としては、歯周病を予防乃至治療できる限り特に限定されるものではないが、抽出物乾燥重量として、組成物の全重量に対して、例えば、0.0005～75重量%、特に0.001～40重量%配合することが好ましい。特に、本発明組成物を食品組成物とする場合には、0.01～20重量%、口腔用組成物とする場合には0.01～1重量%配合することが好ましい。

【0028】本発明において用いる天然ポリフェノール抽出物は、本発明の所期の効果を得られるものであれば、慣用されている方法を用いて得られたものを、特に限定せずに使用することができる。

【0029】天然ポリフェノール抽出物を抽出する抽出溶媒としては、例えば、水；メタノール、エタノール、プロパノール、ブタノール等のアルコール類；酢酸エチルエステル等の低級アルキルエステル；ベンゼン、ヘキサン等の炭化水素；その他エチルエーテル、アセトン、酢酸等の公知の溶媒を挙げることができる。これら溶媒は、単独で用いてもよく、二種以上を組み合わせ使用

することもできる。

【0030】抽出操作としては、通常用いられているような公知の方法を採用することができる。

【0031】本発明において、上記のような慣用されている方法により得られた抽出液は、そのまま用いてもよいが、必要に応じて、さらに濃縮したものをを用いてもよい。また、抽出液を、慣用されている精製法、例えば向流分配法、液体クロマトグラフィー等を用いて精製して使用することも可能である。

【0032】本発明においては、天然ポリフェノール抽出物は、乾燥物として使用することもできる。天然ポリフェノールを含む乾燥物を製造する方法としては、特に限定はされないが、例えば、上記のようにして得られた植物抽出液を、減圧乾燥、凍結乾燥等の通常の手段により植物エキス乾燥物とする方法が挙げられる。

【0033】本発明において天然ポリフェノール抽出物として用いることのできるブドウ種子エキスは、ヨーロッパブドウ（*Vitis vinifera*）の種子を原料として得られるものであり、ポリフェノールとして、MMPs阻害活性を有するポリフェノールであるプロアントシアニジンおよびアントシアニン類を含んでいるものである本発明に用いるブドウ種子エキスは、例えば上記のような公知の方法により得られるものであってもよいし、特公平06-31208号、特開昭63-162685号、特開平03-200781号、特開平02-48593号、特開平03-99090号等の公報に記載されている方法によって得られるものであってもよい。

【0034】尚、これら公報に記載されたようなブドウ種子エキスは、食品素材として、キッコーマン株式会社（商品名：KPA、Gravino1）、インディナ社（商品名：ロイコセレクト）から販売されており、入手することができる。

【0035】本発明組成物においてブドウ種子エキスを配合する場合の配合量は、所望の効果が得られるものであれば特に限定されるものではないが、本発明組成物全量に対して抽出物乾燥重量として、0.005～75重量%、特に10～50重量%配合することが好ましい。また、ブドウ種子エキスを本発明の他の天然ポリフェノール抽出物と併用する場合、その配合量は特に限定されるものではないが、ブドウ種子エキスを上記の量で配合し、他の天然ポリフェノール抽出物を、本発明組成物全量に対して、抽出乾燥重量として、0.005～75重量%、特に10～50重量%配合することが好ましい。また、ブドウ種子エキスと他の天然ポリフェノール抽出物を併用する場合、本発明組成物が食品組成物である場合は、他の天然ポリフェノール抽出物を0.01～40重量%、口腔用組成物である場合は他の天然ポリフェノール抽出物を0.01～5重量%配合することが好ましい。

【0036】ブドウ種子エキスを本発明組成物に配合してトローチ、タブレット、カプセル、キャンディー、チューインガム等の固形の形態乃至剤型とする場合には、

抽出物乾燥重量として0.5~20重量%、特に1.0~10重量%配合するのが好ましい。また、ブドウ種子エキスを配合した本発明組成物をジュース等の液体の形態乃至剤型とする場合には、抽出物乾燥重量として0.005~0.5重量%配合するのが好ましい。

【0037】本発明において、茶抽出物は、一般的に飲用される茶(*Camellia sinensis*)をはじめとする緑茶、ウーロン茶、紅茶、プアール茶等を原料として選択可能である。茶抽出物は、天然ポリフェノールとして、MMPs阻害活性を有するエピガロカテキン類、エピカテキン類、ガロカテキン類等のカテキン類のポリフェノールを含有するものであり、本発明においてはこれらポリフェノールを30%以上、特に65%以上含有する茶抽出物を用いることが好ましい。本発明において茶抽出物を用いる場合は、例えば上記のような公知の方法により得られるものを用いてもよいし、特開昭64-90124号公報、特開平1-265023号公報に記載されている方法により得たものを使用してもよい。

【0038】尚、茶抽出物は、三井農林株式会社(商品名;ポリフェノン)、太陽化学株式会社(商品名;サンフェノン)から販売され、入手可能である。

【0039】本発明組成物において茶抽出物を用いる場合の配合量は、所望の効果が得られるものであれば、特に限定されるものではないが、例えば、本発明組成物全量に対して抽出物乾燥重量として0.005~75重量%、特に10~50重量%配合することが好ましい。特に、トローチ、タブレット、カプセル、キャンディー、チューインガム等の固形の形態乃至剤型とする場合には、0.5~20重量%、特に1.0~10重量%配合するのが好ましい。

【0040】ブルーベリーエキスは、各種のブルーベリーを原料として得られるものであり、ポリフェノールとして、MMPs阻害活性を有するポリフェノールであるアントシアニン類を含有している。本発明においてブルーベリーエキスを使用する場合も、例えば上記したような慣用されている方法により抽出したものを使用することができる。また、例えばブルーベリーエキスのアルコール水系抽出の乾燥物は、インディナ社から販売されており、本発明においては、当該乾燥物を使用することも可能である。

【0041】本発明においてシリマリンエキスを使用する場合も、上記のような慣用されている方法により抽出したものを使用することができる。さらに、シリマリンエキスは、アビ株式会社から販売されており、入手することができるので、本発明では当該シリマリンエキスを使用してもよい。

【0042】本発明組成物には、天然ポリフェノールを含む抽出物に加えて、上記したような抽出物中のMMPs阻害活性を有する天然ポリフェノールを、下記のビタミンC及びその塩、ビタミンE、ビタミンA並びにベ

タカロチンからなる群より選ばれる1種又は2種以上と組み合わせて含有することも可能である。

【0043】抽出物中のMMPs阻害活性を有する有効成分である天然ポリフェノールとしては、上記のプロアントシアニン類;エピガロカテキン、エピカテキン、ガロカテキン等のカテキン類;アントシアニン類、アントシアニン類等が挙げられ、これらは単独で、又は2種以上組み合わせて用いてもよい。

【0044】また、天然ポリフェノールを含む抽出物の代わりに、上記したような抽出物中のMMPs阻害活性を有する天然ポリフェノールの1種又は2種以上を、下記のビタミンC及びその塩、ビタミンE、ビタミンA並びにベータカロチンからなる群より選ばれる1種又は2種以上と組み合わせて含有する歯周病予防又は治療用の食品組成物、口腔用組成物及び医薬組成物とすることも可能である。

【0045】天然ポリフェノールを含む抽出物に代えて、MMPs阻害活性を有する天然ポリフェノールを配合する組成物における当該天然ポリフェノールの配合量、ビタミンC等のビタミン類の種類又は配合量、その他の成分の種類又は配合量、組成物の形態又は剤型、組成物の調製法等については、天然ポリフェノール抽出物を本発明ビタミン類と組み合わせて用いる組成物と同様である。

【0046】本発明組成物において、天然ポリフェノール抽出物と組み合わせて使用するものは、ビタミンC(L-アスコルビン酸:VC)及びその塩、ビタミンE(α-トコフェロール:VE)、ビタミンA及びベータカロチンである(以下、「本発明ビタミン類」という場合がある。)。ビタミンC(L-アスコルビン酸)の塩としては、ナトリウム塩、カルシウム塩、第一鉄の塩、バルミチン酸エステル等の塩等が挙げられる。これら本発明ビタミン類は、単独で用いてもよく、2種以上を選択して用いてもよい。

【0047】本発明ビタミンを2種以上を選択する場合の組合せとしては、ビタミンC(又はその塩)及びビタミンE;ビタミンC(又はその塩)及びビタミンA;ビタミンC(又はその塩)及びベータカロチン;ビタミンE及びビタミンA;ビタミンE及びベータカロチン;ビタミンA及びベータカロチン;ビタミンC(又はその塩)、ビタミンE及びビタミンA;ビタミンC(又はその塩)、ビタミンE及びベータカロチン;ビタミンC(又はその塩)、ビタミンA及びベータカロチン;ビタミンE、ビタミンA及びベータカロチン;ビタミンC(又はその塩)、ビタミンE、ビタミンA及びベータカロチンの組合せが挙げられる。

【0048】本発明組成物における、ビタミンC及びその塩、ビタミンE、ビタミンA並びにベータカロチンの配合量は、本発明の効果が得られるものであれば特に限定されるものではないが、本発明組成物全量に対して、

本発明ビタミン類全量として、0.0005～50重量%を配合することが好ましい。

【0049】それぞれのビタミン類の配合量としては、単独で、又は2種以上のビタミンを配合する場合のいずれであってもよいが、ビタミンC及びその塩の場合0.005～50重量%、特に5～15重量%配合することが好ましく、ビタミンEの場合0.0005～10重量%、特に0.05～5重量%配合することが好ましく、ビタミンA及びベータカロチンの場合0.05～20重量%、特に0.5～5重量%配合することが好ましい。

【0050】本発明組成物において、天然ポリフェノール抽出物と本発明ビタミン類との配合比は、本発明の目的を達成できる限り特に限定されるものではないが、10:1～1:10、特に3:1～1:4とするのが好ましい。特に、ビタミンCのみを天然ポリフェノール抽出物と組み合わせる場合の天然ポリフェノール抽出物とビタミンCとの配合比は、10:1～1:4、好ましくは5:1～1:3とすると、天然ポリフェノール抽出物の作用効果が最も高められ、従って、歯周病に対する予防又は治療効果が最も優れることとなり、特に好ましい。

【0051】本発明組成物には、天然ポリフェノール抽出物及び本発明ビタミン類に加え、さらに、抗菌性植物エキスを配合することができる。抗菌性植物エキスを配合した場合、歯周病原菌の歯周組織に対する刺激作用を取り除くことが可能となり、本発明組成物の歯周病を予防又は治療する効果が増強されるので、好ましい。

【0052】本発明において用いることができる抗菌性植物エキスとしては、例えば、油溶性甘草エキス、桑白皮エキス等が挙げられる。

【0053】これら抗菌性植物エキスの配合量は、本発明の所期の効果を妨げない限り、特に限定はされないが、例えば、組成物全量に対して、0.001～5重量%、さらに、0.01～0.5重量%用いることが好ましい。

【0054】本発明組成物は、上記した成分以外に、pH調整剤、有機酸、糖アルコール、甘味料、香料、ビタミン類、骨代謝ビタミン類、抗酸化剤、賦形剤、可溶化剤、結合剤、滑沢剤、懸濁剤、湿潤剤、皮膚形成物質、矯味剤、矯臭剤、着色料、保存剤等が適宜配合でき、これらの他、医薬組成物、口腔用組成物又は、食品処方設計に通常用いられるその他の添加物乃至食品素材等を適宜配合することができる。このような素材については、具体的には下記ものが含まれる。

【0055】pH調整剤としては、乳酸、バントテン酸、リン酸塩、リンゴ酸、クエン酸が挙げられる。

【0056】ビタミン類としては、本発明ビタミン類であるビタミンC及びその塩、ビタミンE、ビタミンA並びにベータカロチン以外のビタミン類であれば特に限定されないが、ビタミンD群、ビタミンK群、ビタミンP等を配合することができる。

【0057】賦形剤としては、ショ糖、乳糖、デンプン、ブドウ糖、結晶性セルロース、マンニット、ソルビット、キシリトール、エリスリトール、バラチニット、バラチノース、マルチトール、トレハロース、ラクチトール、還元澱粉糖、還元イソマルトオリゴ糖、カップリングシュガー、ガムベース、アラビアガム、ゼラチン、セチルメチルセルロース、軽質無水珪酸、アルミン酸マグネシウム、メタ珪酸アルミン酸カルシウム、炭酸水素ナトリウム、リン酸カルシウムが挙げられる。

10 【0058】可溶化剤としては、アルコール、エステル類、ポリエチレングリコール誘導体、ソルビタンの脂肪酸エステル類、硫酸化脂肪アルコール類が挙げられる。

【0059】粘結剤としては、セルロース誘導体、カラギーナン、アルギン酸ナトリウム、ポリアクリル酸ナトリウム、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、キサンタンガム等が挙げられる。

【0060】滑沢剤としては、ステアリン酸マグネシウム、タルク、硬化油等が挙げられる。

20 【0061】懸濁剤又は湿潤剤としては、ココナッツ油、オリーブ油、ゴマ油、落花生油、バセリ油、バセリ種子オイル、乳酸カルシウム、紅花油、大豆リン脂質、グリセリン、ソルビトール、プロピレングリコール、エチレングリコール等が挙げられる。

【0062】被膜形成物質としては、例えば、酢酸フタル酸セルロース等の炭水化物誘導体、アクリル酸メチル、メタアクリル酸メチル等のアクリル酸系共重合体、メタアクリル酸系共重合体等が挙げられる。

【0063】また、本発明組成物には、矯味剤又は矯臭剤として、サッカリンナトリウム、アスバルテム、ステビアエキス、グラニュー糖、粉糖、水飴、食塩、オレンジ油、水溶性カンゾウエキス、メントール、ユーカリ油等の、甘味料、香料、着色料、保存剤を含有させてもよい。

【0064】本発明組成物に配合できるその他の成分としてはリジン、マグネシウム塩、大豆イソフラボン類、グリチルリチン類が挙げられる。

【0065】本発明組成物は、その形態に応じて上記したような種々の公知成分を配合して調製することができる。食品組成物、口腔用組成物、医薬組成物としての各種形態乃至剤型に調製することができる。

【0066】食品組成物の形態としては、例えば、トローチ、タブレット、カプセル、顆粒、粉末ジュース、チューインガム、キャンディ、グミキャンディ等の形態に処方設計することができる。

50 【0067】本発明でいうところのカプセルとは、ゼラチン等の基剤にグリセリン、ソルビトール等の可塑剤を加えたカプセル皮膜と、それに被包される液状又はゲル状の内容物からなる組成物である。カプセル皮膜としては、ゼラチン等を基剤とする軟質の内カプセル皮膜、糖質等を基剤とする硬質の外カプセル皮膜からなるもので

あってもよい。本発明においては、特に、液状の内容物と、上記のような内カプセル皮膜と外カプセル皮膜とで構成されるカプセル皮膜とからなる粒カプセルが好ましい。

【0068】本発明の食品組成物の各種形態においては、少なくとも上記有効成分、即ち天然ポリフェノール抽出物と本発明ビタミン類が嚥下可能であればよく、チューインガムのガムベース等は、嚥下できなくてもよい。

【0069】また、本発明の食品組成物は、成分を溶解もしくはゲル状ビーズに封入して分散させた飲料にすることもできる。

【0070】口腔用組成物の形態としては、例えば、歯磨剤、洗口剤、トローチ剤、口腔用パスタ剤、ゲル剤等が挙げられ、医薬組成物の剤型としては、例えば錠剤、丸剤、散剤、液剤、懸濁剤、乳剤、顆粒剤、カプセル剤等が挙げられる。

【0071】本発明組成物は、天然ポリフェノール抽出物と本発明ビタミン類とを混合すればよく、又は、同時に若しくは別々に他の成分と共に混合すればよく、その形態又は剤型において慣用されている方法により調製することができる。

【0072】本発明食品組成物の摂取量は、食品の形態、摂取するヒトの年齢、体重、性別、健康状態等において適宜決定でき、特に限定されるものではないが、通常、有効成分である天然ポリフェノール抽出物（乾燥重量）と本発明ビタミン類の総重量として、成人1日当たり1kg当たり、0.00001～1g程度を摂取するのが好ましい。

【0073】本発明医薬組成物の投与量は、その組成物の形態、投与するヒトの年齢、体重、性別、疾患の程度等に応じて適宜決定でき、特に限定されるものではないが、通常、有効成分である天然ポリフェノール抽出物（乾燥重量）と本発明ビタミン類の総重量として、成人1日当たり体重1kg当たり、0.00001～1g程度を摂取するのが好ましい。

【0074】医薬組成物の投与方法として、特に制限はなく、剤型、患者の年齢、性別、疾患の程度等に応じた方法で投与される。例えば、上記したような錠剤、丸剤、散剤、液剤、懸濁剤、乳剤、顆粒剤及びカプセル剤の場合は、経口投与される。

【0075】以上のようにして調製される本発明組成物は、天然由来ポリフェノール抽出物を、ビタミンC（及びその塩）、ビタミンE、ビタミンA並びにベータカロチンの1種以上と組合せて使用することにより、MMPsの阻害効果が増強され、優れた歯周病予防効果を有するものである。また、本発明組成物は、合成系のMMPs阻害剤と比較し、服用・摂取による副作用が少ない天然物由来のポリフェノール抽出物を用いているため、安全性が高く、長期間の使用が可能である。

【0076】本発明組成物は、歯周組織細胞由来MMPsの産生を抑制する作用を有し、歯周組織細胞の増殖抑制を阻害する作用を有しているが、ニコチンにより刺激を受けている場合のこれら作用は、ニコチンの刺激を受けない場合と比べ、より優れている。従って、本発明組成物を、喫煙者乃至受動喫煙者が摂取又は使用することにより、歯周病をより効果的に予防又は治療することが可能である。

【0077】このように、優れた歯周病予防乃至治療効果を有する本発明組成物は、安全性が高く、長期間使用することが可能である歯周病予防又は治療組成物として使用することができる。

【0078】また、本発明組成物を食品組成物として使用する場合は、歯周病の予防又は治療効果を期待でき、健康食品、特定保健用食品として摂取することも可能である。

【0079】本発明組成物を口腔用組成物として使用する場合も、優れた歯周病予防又は治療効果を期待でき、医薬部外品としても使用することができる。

【0080】また、歯周病の治療中に本発明食品組成物又は口腔用組成物を摂取又は使用することにより、治療効果が向上することも期待できる。

【0081】本発明食品又は口腔用組成物は、歯周病の予防又は治療に使用できるが、特に、(A)天然ポリフェノールを含む抽出物から選ばれる1種又は2種以上、並びに、(B)ビタミンC及びその塩、ビタミンE、ビタミンA並びにベータカロチンからなる群より選ばれる1種又は2種以上、を含有する歯周病予防用食品組成物又は歯周病予防用口腔用組成物として使用するのが好ましい。

【0082】上記したように、天然ポリフェノール抽出物と、ビタミンC（及びその塩）、ビタミンE、ビタミンA及びベータカロチンの1種以上とを含有する組成物は、MMPsの阻害効果が増強され、合成系のMMPs阻害剤と比較し、服用・摂取による副作用が少ない天然物由来のポリフェノール抽出物を用いているため、安全性が高く、長期間の使用が可能であるため、MMPsインヒビターとしても使用することができる。従って、天然ポリフェノール抽出物の1種又は2種以上、並びに、ビタミンC及びその塩、ビタミンE、ビタミンA並びにベータカロチン（本発明ビタミン類）の1種又は2種以上、を含有する組成物は、MMPsインヒビターとして使用できる。

【0083】当該MMPsインヒビターにおける天然ポリフェノールを含む抽出物並びにビタミンC等のビタミン類の種類乃至配合量；抗菌性植物エキス等の他の成分の種類乃至配合量；MMPsインヒビターの形態乃至剤型；MMPsインヒビターの調製方法、摂取量乃至投与量、投与方法等については、上記したような本発明食品組成物、口腔用組成物又は医薬組成物と同様とすること

ができる。

【0084】従って、上記MMPsインヒビターは、食品組成物、口腔用組成物又は医薬組成物として使用することができる。

【0085】また、上記MMPsインヒビターに配合される天然ポリフェノール抽出物に含まれる天然ポリフェノールとしては、慢性関節リウマチや、変形性関節症における骨膜及び関節軟骨組織；角膜組織；歯周組織；並びに癌組織等の細胞由来MMPsに対して阻害活性を有する天然ポリフェノールが好ましく、特に歯周組織細胞由来MMPsに対して阻害活性を有するものが好ましいので、上記MMPsインヒビターは、これら細胞由来MMPsに、特に優れた阻害活性を示すことが期待できる。

【0086】

【実施例】以下に試験例、実施例及び比較例により本発明をさらに具体的に説明するが、本発明は下記の試験例及び実施例に制限されるものではない。

【0087】試験例1

歯周組織の破壊に関与する生体由来MMP（コラゲナーゼ、ゼラチナーゼ）に対する、下記の「1、材料」に記載の天然ポリフェノールを含む抽出物による阻害効果を検討した。

【0088】1、材料

1-1、被験天然抽出物

ブドウ種子エキス

茶抽出物

ブルーベリーエキス

シリマリンエキス。

【0089】1-2、陽性対照

テトラサイクリン。

【0090】1-3、コラゲナーゼ

コラゲナーゼとしては、以下の2種類のコラゲナーゼを用いた。

【0091】ヒト歯肉線維芽細胞（以降「HGF細胞」と略す）由来のコラゲナーゼとしては、HGF細胞を用いて無血清のダルベッコ変法MEM培地中に産生させたヒトプロコラゲナーゼを、CMセファロース™（ファルマシア社製）及び亜鉛キレートセファロース™（ファルマシア社製）を用いて精製して緩衝液に溶解後、活性化したものを用いた。活性化は、活性化剤としてアミノフェニル酢酸水銀（シグマ社製）を用い、37℃にて4時間インキュベートすることにより行った。

【0092】また、ヒト歯肉上皮細胞（以降「HGK細胞」と略す）由来のコラゲナーゼとしては、HGK細胞を用いて無血清の上皮用培地中に産生させたヒトプロコ

ラゲナーゼを、CMセファロース™（ファルマシア社製）及び亜鉛キレートセファロース™（ファルマシア社製）を用いて精製して緩衝液に溶解後、上記と同様に活性化したものを用いた。

【0093】1-4、ゼラチナーゼ

ゼラチナーゼとしては、HGF細胞由来のゼラチナーゼ及びHGK細胞由来のゼラチナーゼを用いた。

【0094】HGF細胞由来のゼラチナーゼとしては、HGF細胞を用いて無血清のダルベッコ変法MEM培地中で産生させたヒトプロゼラチナーゼを、HGK細胞由来のゼラチナーゼとしては、HGK細胞を用いて上皮用培地で産生させたヒトプロゼラチナーゼを、各々ゼラチンセファロース 4B™（ファルマシア社製）を用いて精製後、コラゲナーゼと同様の方法により活性化したものを用いた。

【0095】2-1、コラゲナーゼに対する阻害効果の測定

コラゲナーゼに対する上記1-1の天然ポリフェノールを含む抽出物の阻害効果の測定は、フルオレッセインイソチオシアネートで標識されたI型コラーゲン（ヤガイ社製）を基質とした永井らの方法（Japanese Journal of Inflammation, 4巻, 123頁, 1984年参照）に準じてコラゲナーゼ活性を測定して行った。即ち、40μlの活性化済みヒトコラゲナーゼ（2U/ml）と、50μgの基質、40μlのアッセイバッファーに溶解した被験物質とを混合し、37℃で4時間反応させた。コントロール（被験物質未添加）のコラゲナーゼ活性を100%とし、各種被験物質添加時のコラゲナーゼ活性の減少度合から、50%阻害するのに必要な試験薬量を示すIC₅₀値を求めた。また、コラゲナーゼ活性に対する阻害効果が報告されているテトラサイクリンを陽性対照とし、被験天然抽出物との比較を行った。

【0096】2-2、ゼラチナーゼに対する阻害効果の測定

ゼラチナーゼに対する上記1-1の天然ポリフェノールを含む抽出物の阻害効果の測定は、フルオレッセインイソチオシアネートで標識されたIV型コラーゲン（ヤガイ社製）を基質とし、上記のコラゲナーゼに対する阻害活性の測定（2-1）と同様の方法で行った。但し、反応温度は42℃とした。テトラサイクリンについても同様の方法で測定を行った。

【0097】HGK細胞由来コラゲナーゼ及びゼラチナーゼ、並びに、HGF細胞由来コラゲナーゼ及びゼラチナーゼに対する酵素阻害活性の測定結果を表1に示す。

【0098】

【表1】

表 1

	試料	50%阻害濃度(μg/ml)				阻害効果
		コラゲナーゼ		ゼラチナーゼ		
		HGF	HGK	HGF	HGK	
本発明で用いる、天然ポリフェノールを含む抽出物	ブドウ種子エキス	1.2	2.3	1.0	1.9	+++
	茶抽出物	5.4	6.6	7.8	8.1	++
	ブルーベリーエキス	9.4	11.2	6.5	7.3	++
	シリマリンエキス	76.0	82.4	55.0	62.4	+
比較化合物	テトラサイクリン	2.5	3.2	8.7	9.2	+++

HGF: ヒト歯肉線維芽細胞

HGK: ヒト歯肉上皮細胞

+++ : 非常に効果あり

++ : 効果あり

+ : やや効果あり

- : 効果なし

【0099】本発明において、天然ポリフェノールを含む抽出物として使用するブドウ種子エキス、茶抽出物、ブルーベリーエキス及びシリマリンエキスに、MMP阻害効果が確認された。特に、ブドウ種子エキスは、コラゲナーゼ阻害剤として知られているテトラサイクリンと比較して、同等またはそれ以上のMMP阻害活性が確認された。

【0100】以下の試験例2～4において、ブドウ種子エキス、茶抽出物、ブルーベリーエキス又はシリマリンエキスと、ビタミンC又はビタミンEを組み合わせ使用したものをそれぞれ実施例1～実施例4とした。

【0101】また、ビタミンCのみ又はビタミンEのみを使用したものを比較例1乃至比較例2とした。ブドウ種子エキス又は茶抽出物を、それぞれ補酵素Q10と組み合わせ使用したものを、比較例3乃至比較例4とした。

【0102】試験例2

ヒト歯肉線維芽細胞及びヒト歯肉上皮細胞のコラゲナーゼ産生に対する阻害効果を検討した。

【0103】1、材料については、ビタミンC及びビタミンEを被験ビタミンとして用い、比較例3及び4において、補酵素Q10を用いた以外は、試験例1と同じものを用いた。

【0104】ブドウ種子エキス、茶抽出物、ブルーベリーエキス、シリマリンエキス、の使用量は $100\mu\text{g/ml}$ であった。また、比較例1又は2におけるビタミンC又はビタミンEの使用量は、 $50\mu\text{g/ml}$ であった。

【0105】2、細胞のコラゲナーゼ産生に対する阻害効果の測定

96穴の組織培養用プレートに、HGF細胞及びHGK細胞をそれぞれ10,000個/well播種し、 37°C で1日インキュベート後、HGF細胞を被験物質及び1%牛胎児血清を含むダルベッコ変法MEM培地(DMEM)に、HGK細胞を被験物質及び1%牛胎児血清を含む上皮用培地にそれぞれ希釈して、得られた培地で2日間インキュベートした。さらに、培地を、被験物質を含まない、1%牛胎児血清のみを含むDMEMまたは無血清上皮用培地に換えて2日間インキュベートし、培地中に遊離してくるコラゲナーゼの量を試験例1の2-1で記載した永井らの方法を用いて測定した。また、コントロール(被験物質未添加)の培地上清のコラゲナーゼ活性を100%とし、各種被験物質添加時のコラゲナーゼ活性の相対的割合を求めた。表2に、HGF細胞及びHGK細胞のMMP産生に対する阻害活性の測定結果を示す。

【0106】

【表2】

表 2

	被 験 物 質		コラゲナーゼ産生の阻害率(%)	
	試 料	同時添加物 (50 μ g/ml)	(併用時阻害率増加割合(%))	
			HGF	HGK
実 施 例	1 ブドウ種子エキス	なし	30	36
		ビタミンC	62 (32)	58 (22)
		ビタミンE	48 (18)	52 (16)
	2 茶抽出物	なし	25	28
		ビタミンC	44 (19)	39 (11)
		ビタミンE	47 (22)	49 (21)
	3 ブルーベリーエキス	なし	21	18
		ビタミンC	41 (20)	36 (18)
		ビタミンE	32 (11)	25 (7)
	4 シリマリンエキス	なし	14	11
		ビタミンC	32 (18)	35 (24)
		ビタミンE	21 (7)	24 (13)
比 較 例	1 ビタミンC	なし	—	—
	2 ビタミンE	なし	—	—
	3 ブドウ種子エキス	補酵素Q10	32 (2)	39 (3)
	4 茶抽出物	補酵素Q10	28 (3)	29 (1)

- ・表中、HGFはヒト歯肉線維芽細胞を表し、HGKはヒト歯肉上皮細胞を表す。
- ・天然ポリフェノールを含む抽出物(天然ポリフェノール抽出物)と他の成分を併用した場合の阻害率から、天然ポリフェノール抽出物の単独使用時の阻害率を引いたものを、併用時阻害率増加割合(%)とした。尚、各実施例において、天然ポリフェノール抽出物の単独使用時の阻害率を併記しておく(「同時添加物：なし」に相当する)。
- ・表中、比較例1及び比較例2の「—」は、「阻害効果なし」を意味する。

【0107】天然ポリフェノール抽出物と、ビタミンC又はビタミンEとの併用により、細胞のMMP産生に対する阻害活性を効果的に高めることが確認された。

【0108】ブドウ種子エキスと補酵素Q10を併用することは公知であるが、比較例3に示されるように、当該併用による阻害率の増加割合は数%である。これに対して、実施例1に示されるように、本発明のブドウ種子エキスとビタミンC又はビタミンEとの併用による増加割合は、数十%であり、本発明の組合せによる併用効果が優れていることがわかる。なお、茶抽出物とビタミンCまたはビタミンEを組合せた場合においても、補酵素Q10と茶抽出物との併用と比較して、同様の効果が示された(実施例2及び比較例4参照)。

【0109】試験例3

上記したように、タバコの煙中の主な刺激物質であるニコチンは、歯周組織細胞に対して細胞の増殖抑制、コラゲナーゼ産生の増大等の悪影響を及ぼすことがin vitro試験により報告されている。そこで、ニコチンの刺激に

より増大したヒト歯肉線維芽細胞及びヒト歯肉上皮細胞のコラゲナーゼ産生に対する、天然ポリフェノール抽出物と、ビタミンC又はビタミンEとの併用による産生阻害効果を検討した。

【0110】1、材料については、ビタミンC又はビタミンEを被験ビタミンとして用い、その他は試験例1と同じものを用いた。

【0111】2、ニコチン刺激を行った細胞のコラゲナーゼ産生に対する阻害効果の測定試験例2において記載された方法と同様にして測定を行った。但し、培地に、被験物質及び1%牛胎児血清と共に、0.05%ニコチンを添加した。コントロール(ニコチンのみ添加培地)の培地上清のコラゲナーゼ活性を100%とし、各種被験物質添加時のコラゲナーゼ活性の相対的割合を求めた。結果を表3に示す。

【0112】

【表3】

表 3

	被 験 物 質		ニコチン刺激コラゲナーゼ 産生の阻害率(%) (併用時阻害率増加割合(%))	
	試料	同時添加物 (50 μ g/ml)	HGF	HGK
実 施 例	1 ブドウ種子エキス	なし	15	21
		ビタミンC	55 (40)	48 (27)
		ビタミンE	42 (27)	32 (11)
	2 茶抽出物	なし	11	13
		ビタミンC	48 (37)	39 (26)
		ビタミンE	45 (34)	43 (30)
	3 ブルーベリーエキス	なし	8	12
		ビタミンC	37 (29)	41 (29)
		ビタミンE	41 (33)	40 (28)
	4 シリマリンエキス	なし	5	7
		ビタミンC	37 (32)	35 (28)
		ビタミンE	35 (30)	32 (25)
比 較 例	1 ビタミンC	なし	—	—
	2 ビタミンE	なし	—	—

- ・表中、HGFはヒト歯肉線維芽細胞を表し、HGKはヒト歯肉上皮細胞を表す。
- ・天然ポリフェノール抽出物と他の成分を併用した場合の阻害率から、天然ポリフェノール抽出物の単独使用時の阻害率を引いたものを、併用時阻害率増加割合(%)とした。尚、各実施例において、天然ポリフェノール抽出物の単独使用時の阻害率を併記しておく(〔同時添加物：なし〕に相当する)。
- ・表中、比較例1及び比較例2の「—」は、「阻害効果なし」を意味する。

【0113】ニコチンの添加により、被験細胞からのコラゲナーゼ産生の増加が示される(ニコチン無添加の380%増)が、本発明で用いる天然ポリフェノール抽出物とビタミンC又はビタミンEとを併用することにより、ニコチンの刺激により増加したコラゲナーゼ産生に対して、優れた阻害活性を示すことがわかる。

【0114】また、ニコチンを添加しない試験例2(表2)の結果と比較し、ニコチン刺激を行った細胞においては、併用によりコラゲナーゼ産生に対する阻害活性をさらに高めることが確認された。

【0115】試験例4

さらに、ニコチンの刺激により抑制された細胞増殖活性に対する上記試験例1に記載した天然抽出物及びビタミンC等の併用による影響を検討した。

【0116】1. 材料については、ビタミンC又はビタミンEを被験ビタミンとして用い、その他は試験例1と同じものを用いた。

【0117】2. ニコチン刺激を行った細胞増殖に対

する影響の測定96穴の組織培養用プレートにHGF細胞及びHGK細胞を、それぞれ5,000個/well接種し、37°Cで1日インキュベートした。その後、これら細胞を、被験物質、0.05%ニコチン及び1%牛胎児血清を含む、ダルベッコ変法MEM培地(HGF細胞)または上皮用培地(HGK細胞)にそれぞれ希釈して、得られた培地で5日間インキュベートし、それらの細胞増殖活性を測定した。また、対照として培地にニコチンのみを添加した培地を用いた。各被験物質について5日間培養後、10%ホルマリン溶液で細胞を固定し、クリスタルバイオレットで染色し、590nmにおける吸光度から細胞数を計測した。対照(ニコチンのみを添加した培地)の計数値を100%とした場合の各種被験物質の相対的割合を求めた。ニコチン刺激を受けたHGF細胞及びHGK細胞からの、細胞増殖活性に対する影響の測定結果を表4に示す。

【0118】

【表4】

表 4

	被験物質		ニコチン刺激細胞増殖率(%) (併用時増殖率増加割合(%))	
	試料	同時添加物 (50 μ g/ml)	HGF	HGK
対照	ニコチン単独添加培地	なし	100	100
実施例	1 ブドウ種子エキス	なし	125	131
		ビタミンC	165 (40)	149 (18)
		ビタミンE	159 (34)	152 (21)
	2 茶抽出物	なし	115	124
		ビタミンC	131 (16)	147 (23)
		ビタミンE	142 (27)	157 (33)
	3 ブルーベリーエキス	なし	109	113
		ビタミンC	124 (15)	131 (18)
		ビタミンE	135 (26)	146 (33)
	4 シリマリンエキス	なし	113	109
		ビタミンC	146 (33)	133 (24)
		ビタミンE	122 (9)	125 (16)
比較例	1 ビタミンC	なし	—	—
	2 ビタミンE	なし	—	—

・表中、HGFはヒト歯肉線維芽細胞を表し、HGKはヒト歯肉上皮細胞を表す。

・天然ポリフェノール抽出物と他の成分を併用した場合の増殖率から、天然ポリフェノール抽出物の単独使用時の増殖率を引いたものを、併用時増殖率増加割合(%)とした。尚、各実施例において、天然ポリフェノール抽出物の単独使用時の増殖率を併記しておく(「同時添加物：なし」に相当する)。

・表中、比較例1及び比較例2の「—」は、「対照と比較して変化なし」を意味する。

【0119】ニコチンを培地中に添加する事で、細胞増殖の抑制が示される(ニコチン無添加の52%減)が、本発明の天然ポリフェノール抽出物とビタミンC又はビタミンEとの同時添加において、ニコチンの細胞増殖抑制作用に対する阻害活性が高められることが確認された。

【0120】以下に、本発明組成物の処方例を記載する。特に記載がない限り、これら組成物は、常法に従って調製される。

【0121】実施例5 チューインガム
ブドウ種子エキス、ビタミンE、茶抽出物及び油溶性甘草エキスとを配合したチューインガムを、次の処方調製した。

【0122】
炭酸カルシウム 5.00
ブドウ種子エキス 2.00
ビタミンE 0.01
茶抽出物 1.00

油溶性甘草エキス 0.05
ガムベース 27.00
エリスリトール 10.00
キシリトール 38.00
マルチトール 12.00
香料 残部
計 100.00重量部。

【0123】実施例6 粒カプセル
ゼラチン及びソルビトールからなる内カプセル皮膜40重量部でカプセル内溶液60重量部を被包し、さらに糖質からなる外カプセル皮膜110重量部で糖衣することにより粒カプセルを調製した。

【0124】

23

カプセル内溶液

ビタミンC	7.2
ビタミンE	2.4
ブドウ種子エキス	12.0
茶抽出物	12.0
グリセリン脂肪酸エステル	1.0
紅花油	残部
計	60重量部。

【0125】

内カプセル皮膜

ゼラチン	36.0
ソルビトール	残部
計	40.0重量部。

【0126】

外カプセル皮膜

油溶性甘草エキス	0.3
卵殻カルシウム	1.0
アスパルテーム	0.1
アラビアガム	0.6
ゼラチン	0.2
香料	0.4
カルバナワックス	0.1
シェラック	0.3
パラチニット	残部
計	110.0重量部。

【0127】実施例7 タブレット

ビタミンC、ビタミンE、ブドウ種子エキス、茶抽出物及び油溶性甘草エキスを配合したタブレットを、次の処方で調製した。

【0128】

ビタミンC	9.0
粉末ビタミンE	1.0
(d- α -トコフェロール20%含有)	
ブドウ種子エキス	12.0
茶抽出物	12.0
油溶性甘草エキス	1.0
ポリデキストロース	7.0
シュガーエステル	2.0
香料	1.0
キシリトール	15.0
パラチノース	40.0
計	100.0重量部。

【0129】実施例8 糖衣タブレット

ビタミンC、ビタミンE、ビタミンA、ブドウ種子エキス及び茶抽出物とを配合した錠剤部分200重量部を、油溶性甘草エキスを配合した糖衣部130重量部で糖衣した口中清涼剤を作成した。

【0130】

24

錠剤部分

ビタミンC	5.00
ビタミンE	1.50
ビタミンA	0.50
ブドウ種子エキス	8.50
茶抽出物	8.50
シュガーエステル	1.00
グアーガム	0.20
アスパルテーム	0.01

香料 1.00

パラチノース	残部
計	100.00重量部。

【0131】

糖衣部

油溶性甘草エキス	0.12
リン酸3カルシウム	1.00
アスパルテーム	0.01
アラビアガム	0.50
香料	0.40
カルバナワックス	0.10
シェラック	0.20
マルチトール	残部
計	100.00重量部。

【0132】実施例9 キャンディ

ブドウ種子エキス、茶抽出物、ビタミンC及び桑白皮エキスを配合したキャンディを、次の処方で作成した。

【0133】

ブドウ種子エキス	1.0
茶抽出物	1.0
ビタミンC	5.0
桑白皮エキス	0.1
キシリトール	8.0
マルチトール	10.0
アスパルテーム	0.1
香料	0.2
パラチニット	残部
計	100.0重量部。

【0134】実施例10 ビーズインドリンク

まず下記処方を均一に溶かしたゲルを5%乳酸カルシウム溶液中に滴下し、球状のビタミンビーズを得た。

【0135】

40

(14)

特開平11-302142

25		
ビタミンB ₁₂ 処方		*
ビタミンE	0.10	
(d- α -トコフェロール67%含有)		
油溶性甘草エキス	0.02	
エリスリトール	15.00	
ステビア	0.05	
アルギン酸ナトリウム	1.00	
色素	0.05	
脱イオン水	残部	
計	100.00重量部。	10

26		
ブドウ種子エキス	0.05	
ビタミンC	1	
1%ジェランガム	10	
エリスリトール	15	
ステビア	0.1	
香料	0.2	
ビタミンB ₁₂	7	
50%クエン酸溶液	pH 3.7 に調整	
脱イオン水	残部	
計	100.00重量部。	

【0136】上記ビタミンB₁₂を下記処方のドリンク
に配合した。 *

実施例11 練歯磨き

第2リン酸カルシウム	30.00
グリセリン	10.00
ソルビトール	20.00
カルボキシメチルセルロースナトリウム	1.00
ラウリル硫酸ナトリウム	1.50
カラギーナン	0.50
サッカリンナトリウム	0.10
香料	1.00
安息香酸ナトリウム	0.30
ブドウ種子エキス	0.05
ビタミンE	0.05
油溶性甘草エキス	0.05
水	残部
計	100.00重量部。

【0138】

実施例12 洗口液

エタノール	10.00
グリセリン	5.00
クエン酸	0.01
クエン酸ナトリウム	0.10
ポリオキシエチレン硬化ひまし油	0.50
パラオキシ安息香酸メチル	0.10
香料	0.20
ブドウ種子エキス	0.05
ビタミンE	0.05
ビタミンC	0.01
水	残部
計	100.00重量部。

【0139】

実施例14 口腔用バスタ

流動パラフィン	13
セタノール	10
グリセリン	25
ソルビタンモノバルミテート	0.6
ポリオキシエチレンソルビタンモノステアレート	5
ラウリル硫酸ナトリウム	0.1

※実施例13 トローチ

30	マルチトール	21.00
	アラビアガム	1.50
	ショ糖脂肪酸エステル	2.50
	粉末香料	1.00
	クエン酸	4.00
	ブドウ種子エキス	0.10
	ビタミンC	10.00
	油溶性甘草エキス	0.05
	キシリトール	残部
	計	100.00重量部。

40 【0140】

※

27

塩化ベンゾトニウム	
サリチル酸メチル	
サッカリン	
香料	
ブドウ種子エキス	
ビタミンE	
油溶性甘草エキス	
水	
計	

0.1

0.1

0.2

0.25

0.10

0.05

0.05

残部

100.00重量部。

【0141】

実施例15 口腔用ゲル

カルボキシメチルセルロース	0.2
グリセリン	40
ブドウ種子エキス	1
ビタミンE	0.05
水	残量

全量 100(重量%)。

【0142】実施例16 粒カプセル

ゼラチン及びソルビトールからなる内カプセル皮膜40重量部でカプセル内溶液60重量部を被包し、さらに糖質からなる外カプセル皮膜110重量部で糖衣することにより粒カプセルを調製した。

【0143】

カプセル内溶液

ビタミンC	25.0
ブドウ種子エキス	10.0
茶抽出物	10.0
グリセリン脂肪酸エステル	1.0
紅花油	残部
計	60重量部。

【0144】内カプセル皮膜

ゼラチン	36.0
ソルビトール	残部
計	40.0重量部。

【0145】

外カプセル皮膜

油溶性甘草エキス	0.3
卵殻膜	1.0
アスパルテーム	0.1
アラビアガム	0.6
ゼラチン	0.2
香料	0.4
カルバナワックス	0.1
シェラック	0.3
パラチニット	残部
計	110.0。

【0146】上記の実施例は本発明の具体的な態様を示したものであって、本発明は上記の実施例に限定されるものでない。また、本発明には、以下の態様も含まれる。

28

10 【0147】項I (A) 歯周組織細胞由来マトリックスメタロプロテアーゼ阻害活性を有する天然ポリフェノールを含む抽出物から選ばれる1種又は2種以上、並びに、(B)ビタミンC及びその塩、ビタミンE、ビタミンA並びにベータカロチンからなる群より選ばれる1種又は2種以上、を含有する歯周病予防又は治療用口腔用組成物、

項I-1 歯周病予防用口腔用組成物である項Iに記載の組成物、

20 項I-2 (A) 天然ポリフェノールを含む抽出物が、ブドウ種子エキス、茶抽出物、ブルーベリーエキス及びシリマリンエキスからなる群より選ばれる1種又は2種以上である項I又はI-1に記載の組成物、

項I-3 さらに、(C) 抗菌性植物エキス、を含有する項I～I-2のいずれかに記載の組成物、

項I-4 (C) 抗菌性植物エキスが、油溶性甘草エキス及び桑白皮エキスからなる群より選ばれる1種又は2種である項I-3に記載の組成物、

30 項I-5 ニコチン刺激による歯周組織細胞由来マトリックスメタロプロテアーゼ産生の抑制作用を有する、喫煙者に特に有用な項I～I-4のいずれかに記載の組成物。

【0148】項II (A) 歯周組織細胞由来マトリックスメタロプロテアーゼ阻害活性を有する天然ポリフェノールを含む抽出物から選ばれる1種又は2種以上、並びに、(B)ビタミンC及びその塩、ビタミンE、ビタミンA並びにベータカロチンからなる群より選ばれる1種又は2種以上、を含有する歯周病予防又は治療用医薬組成物、

40 項II-1 (A) 天然ポリフェノールを含む抽出物が、ブドウ種子エキス、茶抽出物、ブルーベリーエキス及びシリマリンエキスからなる群より選ばれる1種又は2種以上である項IIに記載の組成物、

項II-2 さらに、(C) 抗菌性植物エキス、を含有する項II又はII-1に記載の組成物、

項II-3 (C) 抗菌性植物エキスが、油溶性甘草エキス及び桑白皮エキスからなる群より選ばれる1種又は2種である項II-2に記載の組成物、

項II-4 ニコチン刺激による歯周組織細胞由来マトリックスメタロプロテアーゼ産生の抑制作用を有する、喫

50 煙者に特に有用な項II～II-3のいずれかに記載の組成

物。

【0149】

【発明の効果】本発明の組成物は、優れた歯周病予防又は治療の作用を有している。また、本発明組成物では、合成系のMMPs阻害剤と比較し、服用・摂取による副作用が少ない天然ポリフェノールを含む抽出物を用いて*

* いるため、安全性が高く、長期間の使用が可能であり、歯周病予防又は治療用の食品組成物、口腔用組成物又は医薬組成物として有用である。

【0150】さらに、本発明組成物は、喫煙者乃至受動喫煙者が摂取又は使用した場合、歯周病をより効果的に予防又は治療することが可能である。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁶

識別記号

F I

A 6 1 K 31/07
31/355
31/375
35/78

A 6 1 K 31/07
31/355
31/375
35/78

C

// C 0 7 D 311/62
311/72

1 0 1

C 0 7 D 311/62
311/72

1 0 1